

Requested document:

[JP2003200041 click here to view the pdf document](#)

DEVICE FOR INJECTING VARIOUS REACTANTS SUCCESSIVELY AND SYNCHRONOUSLY IN PARALLEL

Patent Number:

Publication date: 2003-07-15

Inventor(s): FOUILLET YVES; SARRUT NICOLAS; GRUSS ANTOINE

Applicant(s): COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE

Requested Patent: [JP2003200041](#)

Application Number: JP20020307504 20021022

Priority Number(s): FR20010013734 20011024

IPC Classification: B01J19/00

EC Classification: [B01F13/00M](#), [B01J19/00R](#), [B01L3/00C6E](#), [B01L3/00C6M](#), [G01N35/08](#)

Equivalents: [EP1306674](#), [FR2831081](#)

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a minute circulation device which can excellently be controlled synchronously in parallel.

SOLUTION: This minute circulation device for injecting a series of movable reaction chambers (102, 103) and immiscible segmented beads (101) into micro- channels (21-26) synchronously in parallel is provided with an injecting means (10) for injecting a liquid for the chambers (102, 103) and another liquid for the beads (101) alternately in parallel and a first controlling means for controlling the propagation of one of the liquids in one channel. The first controlling means can stop the propagation of one of the liquids in a region (31) by making good use of the action of one of the liquids according to the physical and chemical characteristics.

COPYRIGHT: (C)2003,JPO

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-200041

(P2003-200041A)

(43)公開日 平成15年7月15日 (2003.7.15)

(51)Int.Cl.⁷

B 01 J 19/00

識別記号

3 2 1

F I

B 01 J 19/00

デマコト⁸(参考)

3 2 1 4 G 0 7 5

審査請求 未請求 請求項の数15 O.L (全 12 頁)

(21)出願番号 特願2002-307504(P2002-307504)

(22)出願日 平成14年10月22日 (2002.10.22)

(31)優先権主張番号 0 1 1 3 7 3 4

(32)優先日 平成13年10月24日 (2001.10.24)

(33)優先権主張国 フランス (FR)

(71)出願人 590000514

コミツサリア タ レネルジー アトミー
ク

フランス国・75752・パリ・15エム・リ
ュ・ドゥ・ラ・フェデラシオン・31-33

(72)発明者 イヴ・フィエ

フランス・38340・ヴォレブ・シュマン・
デ・カリエール・17

(74)代理人 100064908

弁理士 志賀 正武 (外7名)

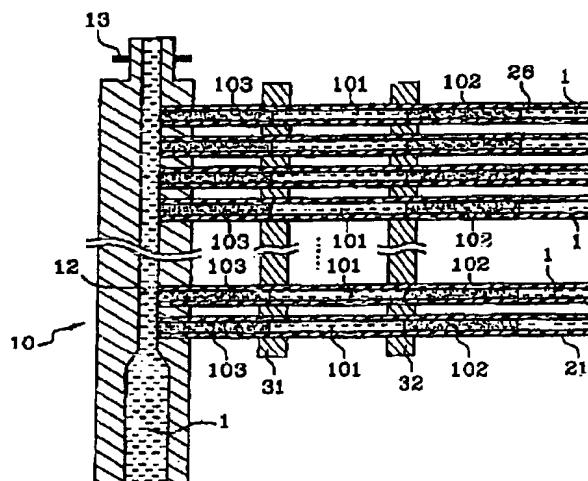
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 様々な反応剤の順次的注入のための並列的同期注入のためのデバイス

(57)【要約】

【課題】 並列的かつ同期的な制御を良好に行い得るようなつ微小流通デバイスの提供。

【解決手段】 可動反応チャンバ(102, 103)と、非混和性のセグメント化ビーズ(101)と、からなる一連のものを、マイクロチャネル(21~26)内へと並列的かつ同期させつつ注入する微小流通デバイスであって、一可動反応チャンバのための液体とセグメント化ビーズのための液体とを交互にかつ並列的に注入する注入手段(10)と;マイクロチャネル内において一方の液体の伝搬を制御するための第1制御手段と;を具備し、第1制御手段は、一方の液体の物理的・化学的特性に基づく作用をもたらすことにより、領域(31)において一方の液体の伝搬を停止させることができるようにになっている。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 複数の可動反応チャンバ(102, 103)と、これら可動反応チャンバに対して非混和性の複数のセグメント部材(101)と、からなる一連のものを、複数のマイクロチャネル(21~26)内へと、並列的にかつ同期させつつ注入するための微小流通デバイスであって、

ー前記可動反応チャンバを形成するための液体と前記セグメント部材を形成するための液体とを交互に、前記複数のマイクロチャネル内へと、並列的に注入するための注入手段(10)と；

ー前記マイクロチャネル内において前記2つの液体のうちの一方の液体の伝搬を制御するための第1制御手段であって、各マイクロチャネル内における前記一方の液体の注入量を規定し得るよう、各マイクロチャネルの領域(31)において作用するように配置された、第1制御手段と；を具備し、

前記第1制御手段は、動作状態とされたときには、前記一方の液体の物理的・化学的特性に基づく作用をその一方の液体に対してのみもたらし、ただし、他方の液体には直接的な作用をもたらすことなく、これにより、各マイクロチャネルの前記領域において前記一方の液体の伝搬を停止させることができるとまたは減速させることができるようにになっていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項2】 請求項1記載の微小流通デバイスにおいて、

前記2つの液体のうちの前記一方の液体の注入量を変更し得るよう、前記第1制御手段は、各マイクロチャネルの前記領域の位置が変更可能なものとされていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項3】 請求項1または2記載の微小流通デバイスにおいて、

前記注入手段が、前記複数のマイクロチャネル(21~26)の各第1端部に対して連通した注入チャネル(12)を有した部材(10)を、備えていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項4】 請求項3記載の微小流通デバイスにおいて、

前記注入チャネル(12)の一端は、チャネル導入部(11)に対して連通しており、これにより、このチャネル導入部を通して、内部へと前記2つの液体が導入されるようになっており、

前記注入チャネル(12)の他端には、該注入チャネル(12)内に存在する液体を排出するための排出手段が設置されていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項5】 請求項4記載の微小流通デバイスにおいて、

前記排出手段が、バルブ(13)を備えていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項6】 請求項1~5のいずれか1項に記載の微小流通デバイスにおいて、

前記第1制御手段が、熱的に動作する手段、粘度に基づき減速を引き起こすよう動作する手段、磁気効果に基づいて動作する手段、電気的漏れによって動作する手段、および、チューブの締付によって動作する手段、のいずれかから選択されていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項7】 請求項6記載の微小流通デバイスにおいて、
前記第1制御手段が、熱的に動作する手段とされ、
該第1制御手段が、ペルチェ効果を利用したデバイスおよび熱伝達デバイスのいずれかとされていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項8】 請求項7記載の微小流通デバイスにおいて、

前記第1制御手段が、熱的に動作する手段とされ、
該第1制御手段が、前記2つの液体のうちの一方の液体の凝固を引き起こし得る手段とされていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項9】 請求項3記載の微小流通デバイスにおいて、

前記注入チャネル(12)と各マイクロチャネルの前記領域(31)とが、互いに平行に配置され、
前記複数のマイクロチャネル(21~26)は、これら注入チャネル(12)および領域(31)に対して、垂直に配置されていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項10】 請求項1~9のいずれか1項に記載の微小流通デバイスにおいて、

さらに、前記2つの液体のうちの前記一方の液体の伝搬を制御するための少なくとも1つの第2制御手段を具備し、

該第2制御手段は、前記第1制御手段よりも下流側に配置され、

前記第2制御手段は、動作状態とされたときには、前記一方の液体の物理的・化学的特性に基づく作用をその一方の液体に対してのみもたらし、ただし、他方の液体には直接的な作用をもたらすことなく、これにより、各マイクロチャネルの領域(32)において前記一方の液体の伝搬を停止させることができるとまたは減速させができるようになっていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項11】 請求項10記載の微小流通デバイスにおいて、

前記第2制御手段が、熱的に動作する手段、粘度に基づき減速を引き起こすよう動作する手段、磁気効果に基づいて動作する手段、電気的漏れによって動作する手段、および、チューブの締付によって動作する手段、のいずれかから選択されていることを特徴とする微小流通デバイス。

イス。

【請求項12】 請求項11記載の微小流通デバイスにおいて、

前記第2制御手段が、熱的に動作する手段とされ、該第2制御手段が、ペルチェ効果を利用したデバイスおよび熱伝達デバイスのいずれかとされていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項13】 請求項12記載の微小流通デバイスにおいて、

前記第2制御手段が、熱的に動作する手段とされ、該第2制御手段が、前記2つの液体のうちの一方の液体の凝固を引き起こし得る手段とされていることを特徴とする微小流通デバイス。

【請求項14】 生物学的反応器であって、

一複数の可動反応チャンバを形成するための液体を供給するための第1供給手段と；

一前記可動反応チャンバに対して非混和性の複数のセグメント部材を形成するための液体を供給するための第2供給手段と；

一請求項1～13のいずれか1項に記載された微小流通デバイス(100)であるとともに、前記注入手段(10)が、前記複数の可動反応チャンバと前記複数のセグメント部材とからなる一連のものを前記微小流通デバイスの前記複数のマイクロチャネル(21～26)内へと供給し得るよう、前記第1供給手段と前記第2供給手段とに対して交互的に連結されるものとされている、微小流通デバイス(100)と；

一複数のチャネル(81)内を流通する試料に対して生物学的処理を行い得るマイクロシステム(80)であって、各チャネル(81)上に、前記微小流通デバイス(100)の対応マイクロチャネル(21～26)に対して連結された第1受領開口(82)と、前記反応チャンバの内部へと試料を注入するための試料注入手段に対して連結された第2受領開口(84)と、を備えているような、マイクロシステム(80)と；を具備していることを特徴とする生物学的反応器。

【請求項15】 試料に対して生物学的処理または生化学的処理または化学的処理を実施するための方法であって、

一請求項1～13のいずれか1項に記載された微小流通デバイス(100)によって、各マイクロチャネル(21～26)内に、前記複数の可動反応チャンバと前記複数の非混和性セグメント部材とからなる一連のものを、並列的にかつ同期させつつ形成し；

一前記微小流通デバイス(100)の前記マイクロチャネル(21～26)内に形成された、前記複数の可動反応チャンバと前記複数の非混和性セグメント部材とからなる一連のものを、マイクロシステム(80)のうちの、前記微小流通デバイス(100)の前記複数のマイクロチャネル(21～26)の数に対応した数とされた

複数のチャネル(81)へと、注入し；

一前記マイクロシステム(80)の前記複数のチャネル(81)へと試料を同時にかつ並列的に注入することにより、試料を、前記マイクロシステム(80)の前記複数のチャネル(81)内を流通する前記可動反応チャンバに対して同期的に混合し；

一前記可動反応チャンバに対して混合された試料についての生物学的処理または生化学的処理または化学的処理を実現する；ことを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、様々な反応剤を順次的に注入するための並列的同期注入のためのデバイスに関するものである。本発明は、また、試料に対して生物学的処理や生化学的処理や化学的処理を実施するための、生物学的反応器(生物学的リアクタ)および方法に関するものである。

【0002】一般的に言えば、本発明は、処理速度が速いことが要求されるようすべての分野に応用され、特に、HTS(“high through-put screening”)化学分析またはHTS生物学的分析に応用される。

【0003】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】生物学的応用や化学的応用のための微小流通技術から導出される1つの原理は、反応を小型化し比較し順次的に行うことである。それは、例えば、多数の遺伝子の研究を可能としつつも最小量と最小時間とでもって研究を行い得るような自動化装置を必要とするゲノム分析において、極めて重要である。同じことは、プロテオミクス分析についても、当てはまる。

【0004】小型化は、シリコンやガラスやプラスチックに関する微小技術の開発によって、可能となった。シリコンやガラスやプラスチックにおいてサブミクロンから数十ミクロンのマイクロチャネルを形成することに関しては、膨大な量の参考文献が存在する。

【0005】小型化は、非常に小さい表面上において多数の平行チャネルを集積化することを可能とする。その結果、同時に動作する複数のチャネルを集積化することができる。この内容については、R. A. Mathies 氏他により、“DNA analysis with capillary array electrophoresis micro-plates”と題して、Micro Total Analysis Systems '98において発表がなされている。

【0006】上記の集積化においては、少なくとも1つのチャネル内において、互いに異なる複数の反応剤を流通させる。したがって、連続流すなわちFIA(“flow injection analysis”)と称すことができる。図1は、各量をなす様々な反応剤の流通を可能としている一連の反応領域を概略的に示している。マイクロチャネル(1)においては、複数の反応領域(R_{i-1} , R_i , R_{i+1})が、矢印で示す向きに、流通している。反

応領域どうしの混合や汚染を防止したり制限したりし得るため、隣り合っている2つの反応領域どうしの間の区別を行いたい得るように、セグメントを配置する必要がある場合もある。その場合、それらは、移動反応チャンバ(R_{i-1}, R_i, R_{i+1})、および、隔壁ビーズまたはセグメント化ビーズ、と称すことができる。反応領域とセグメント化液体とが混和性であれば、隣り合う反応領域どうしの間の拡散が起こらないことを保証しておく必要がある(国際公開特許明細書第00/42212号を参照されたい)。

【0007】また、各容積をなす反応領域と、非混和性液体によって形成されたセグメント化ビーズと、を使用することもできる。これは、『非混和性セグメントを使用した一連の可動反応チャンバ』と称することができ、『反応領域シリーズ』と略称することができる。反応領域として、水性溶液を使用することができ(生物学においては最も主流)、セグメント化ビーズとして、オイル(無機オイル、シリコンオイル、等)や水に対して非混和性の有機溶媒(例えば、オクタン)を使用することができる。

【0008】FIAという原理に基づいたマイクロシステムを実現する際の技術的課題の1つは、マイクロチャネルの数が多いことと、複数の反応領域シリーズの形成を可能とする自動化装置の構成と、である。実際、反応領域シリーズは、マイクロチャネル内において正確に制御された態様で、注入されて流通されなければならぬ。

【0009】国際公開特許明細書第01/12327号には、メインのマイクロチャネル内において、セグメント化容積によつた互いに隔壁された一連の反応領域を形成して可動とするための方法が開示されている。複数の液体領域の移動は、メインのマイクロチャネルに沿つて配置された複数の電極を使用して、動電学的に得られている。動電効果は、可動反応チャンバに対してのみ作用し、セグメント化ビーズに対しては作用しない。これにより、反応領域の位置における制御が可能とされる。

【0010】他の分野においては、2つの相を使用したシステムの中の1つの相に対して選択的に作用をもたらすという概念は、既に公知である。例えば、石油産業応用においては、ガスが流通しているときには開放されかつ石油がバルブに到達した時点で自動的に閉塞するような自動ゲートまたは自動バルブが使用されている。この原理は、チャネルの一部に、十分な低温にまで冷却し得るような冷却システムを設けておき、石油を凝固させてチャネルを閉塞することである。存在しているのがガスである場合には、ガスは、自由に流通することができる。これに関しては、米国特許明細書第4,203,472号、米国特許明細書第4,269,212号、米国特許明細書第5,101,848号、および、国際公開特許明細書第94/29690号、を参照することができ

きる。

【0011】国際公開特許明細書第00/30751号には、井戸プレートタイプのリザーバからマイクロシステムへと、複数の小さな液体領域を転送するための方法が開示されている。この転送システムは、複数の細いチューブを使用して実現されている。注入は、チューブの両端間の圧力差によって行われている。また、注入容積の制御のために、複数の液体の中の1つを凝固させるという概念が、開示されている。この文献による開示内容は、反応領域シリーズという概念に対しては適用することができない。

【0012】従来技術によるツールを使用することによって、数μlという容積の1つのライン上において、反応領域シリーズを実現することは可能である。例えば、複数のバルブと複数のポンプとからなるシステムを使用するだけで十分である。また、チューブ内において反応領域シリーズを形成して貯蔵することもできる。さらにまた、井戸内に既に形成されたあるいは井戸プレート上に既に形成された様々な反応物質を順次的に吸引するために、圧力システムすなわちプランジャーシリンジを使用することができる。

【0013】しかしながら、従来技術においては、非常に少ない量(1μl未満)の反応領域を使用した場合には、すべての平行チャンバに対して同時に注入されなければならない同一反応剤を使用したにしても、複数の平行チャネルにわたって、同じ結果を得ることができなかった。この場合、小さなサイズのチャネルは、粘着力よりも大きいような毛細管力を誘起する。毛細管効果は、非常にランダムに変動するものである。それは、毛細管力が、漏れ具合や、2つの流体間の界面張力や、温度や、チャネル内面の表面特性、に依存するからである。よって、実際には、複数の平行シリーズの同期を制御することは、非常に困難なことである。

【0014】

【特許文献1】国際公開特許明細書第00/42212号

【特許文献2】米国特許明細書第4,203,472号

【特許文献3】米国特許明細書第4,269,212号

【特許文献4】米国特許明細書第5,101,848号

【特許文献5】国際公開特許明細書第94/29690号

【特許文献6】国際公開特許明細書第00/30751号

【非特許文献1】R.A.Mathies氏他による、Micro Total Analysis Systems '98における“DNA analysis with capillary array electrophoresis micro-plates”

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明は、従来技術における問題点に対しての解決手段を提供するものである。

【0016】本発明の目的は、複数の可動反応チャンバ

と、これら可動反応チャンバに対して非混和性の複数のセグメント部材と、からなる一連のものを、複数のマイクロチャネル内へと、並列的にかつ同期させつつ注入するための微小流通デバイスであって、一可動反応チャンバを形成するための液体とセグメント部材を形成するための液体とを交互に、複数のマイクロチャネル内へと、並列的に注入するための注入手段と；マイクロチャネル内において2つの液体のうちの一方の液体の伝搬を制御するための第1制御手段であって、各マイクロチャネル内における一方の液体の注入量を規定し得るよう、各マイクロチャネルの領域（介在領域）において作用するように配置された、第1制御手段と；を具備し、第1制御手段は、動作状態とされたときには、一方の液体の物理的・化学的特性に基づく作用をその一方の液体に対してのみもたらし、ただし、他方の液体には直接的な作用をもたらすことなく、これにより、各マイクロチャネルの領域において一方の液体の伝搬を停止させることができると減速させることができるようにになっているような微小流通デバイスを提供することである。

【0017】2つの液体のうちの一方の液体の注入量を変更し得るよう、第1制御手段は、各マイクロチャネルの領域の位置が変更可能なものとすることができる。

【0018】好ましくは、注入手段は、複数のマイクロチャネルの各第1端部に対して連通した注入チャネルを有した部材を、備えている。有利には、注入チャネルの一端は、チャネル導入部に対して連通しており、これにより、このチャネル導入部を通して、内部へと2つの液体が導入されるようになっており、注入チャネルの他端には、注入チャネル内に存在する液体を排出するための排出手段が設置されている。排出手段は、バルブとすることができる。注入チャネルと各マイクロチャネルの領域とは、互いに平行に配置することができ、この場合には、複数のマイクロチャネルは、これら注入チャネルおよび領域に対して、垂直に配置されることとなる。

【0019】第1制御手段は、熱的に動作する手段、粘度に基づき減速を引き起こすよう動作する手段、磁気効果に基づいて動作する手段、電気的漏れによって動作する手段、および、チューブの締付によって動作する手段、のいずれかから選択することができる。第1制御手段が、熱的に動作する手段とされている場合には、この第1制御手段は、ペルチェ効果を利用したデバイスおよび熱伝達流体のいずれかとすることができる。第1制御手段は、2つの液体のうちの一方の液体の凝固を引き起こし得る手段とすることができる。

【0020】微小流通デバイスは、さらに、2つの液体のうちの一方の液体の伝搬を制御するための少なくとも1つの第2制御手段を具備することができ、第2制御手段は、第1制御手段よりも下流側に配置されるとともに、第2制御手段は、動作状態とされたときには、一方の液体の物理的・化学的特性に基づく作用をその一方の

液体に対してのみもたらし、ただし、他方の液体には直接的な作用をもたらすことなく、これにより、各マイクロチャネルの領域において一方の液体の伝搬を停止させることができると減速させることができるようにになっている。第2制御手段は、熱的に動作する手段、粘度に基づき減速を引き起こすよう動作する手段、磁気効果に基づいて動作する手段、電気的漏れによって動作する手段、および、チューブの締付によって動作する手段、のいずれかから選択することができる。第2制御手段が、熱的に動作する手段とされている場合には、第2制御手段は、ペルチェ効果を利用したデバイスおよび熱伝達流体のいずれかとすることができる。第2制御手段も、また、2つの液体のうちの一方の液体の凝固を引き起こし得る手段とすることができる。

【0021】本発明のさらなる目的は、生物学的反応器であって、

—複数の可動反応チャンバを形成するための液体を供給するための第1供給手段と；

—可動反応チャンバに対して非混和性の複数のセグメント部材を形成するための液体を供給するための第2供給手段と；

—上述したような微小流通デバイスであるとともに、注入手段が、複数の可動反応チャンバと複数のセグメント部材とからなる一連のものを微小流通デバイスの複数のマイクロチャネル内へと供給し得るよう、第1供給手段と第2供給手段とに対して交互に連結されるものとされている、微小流通デバイスと；

—マイクロシステムの複数のチャネル内を流通する試料に対して生物学的処理を行い得るマイクロシステムであって、各チャネル上に、微小流通デバイスの対応マイクロチャネルに対して連結された第1受領開口と、反応チャンバの内部へと試料を注入するための試料注入手段に対して連結された第2受領開口と、を備えているような、マイクロシステムと；を具備している。

【0022】本発明のさらなる目的は、試料に対して生物学的処理または生化学的処理または化学的処理を実施するための方法であって、この方法においては、

—上述したような微小流通デバイスによって、各マイクロチャネル内に、複数の可動反応チャンバと複数の非混和性セグメント部材とからなる一連のものを、並列にかつ同期させつつ形成し；

—微小流通デバイスのマイクロチャネル内に形成された、複数の可動反応チャンバと複数の非混和性セグメント部材とからなる一連のものを、マイクロシステムのうちの、微小流通デバイスの複数のマイクロチャネルの数に対応した数とされた複数のチャネルへと、注入し；

—マイクロシステムの複数のチャネルへと試料を同時にかつ並列に注入することにより、試料を、マイクロシステムの複数のチャネル内を流通する可動反応チャンバに対して同期的に混合し；

ー可動反応チャンバに対して混合された試料に関する生物学的処理または生化学的処理または化学的処理を実現する。

【0023】

【発明の実施の形態】添付図面を参照しつつ、本発明を限定するものではない単なる例示として以下の説明を読むことにより、本発明が、より明瞭に理解され、他の利点が、明らかとなるであろう。

【0024】図2～図8は、本発明による、並列的でありかつ同期調節された注入デバイスを示す断面図である。

【0025】この注入デバイスは、長尺部材(10)を備えている。この長尺部材(10)には、長さ方向軸に沿って貫通する穴が形成されており、この貫通穴は、注入チャンバを形成している。注入チャンバは、チャネル導入部(11)と、この導入部に連通した注入チャネル(12)とを備えている。長尺部材(10)は、さらに、注入チャネル(12)の軸に対して垂直な軸方向に複数の穴を備えている。これら各穴は、注入チャネル(12)に対して連通している。これら各穴は、マイクロキャビラリまたはマイクロチャネル(21～26)の第1端部を収容するために使用されている。複数のマイクロキャビラリは、例えば溶融シリコンを使用して形成されており、例えば国際公開特許明細書第00/30751号に記載されたタイプのポリイミドによって内張りされている。これらマイクロキャビラリは、典型的には数μm～数百μmといったような非常に細い直徑のものとすることができます。これらマイクロキャビラリは、接着によって、長尺部材(10)に対して固定することができる。

【0026】マイクロキャビラリの第2端部は、マイクロシステム(図示せず)によって形成することができる。

【0027】注入チャネル(12)の導入部(11)は、複数のマイクロチャネル内を流通することとなる順次的な液体を注入するためのチューブに対して、接続される。注入チャネルのうちの、導入部(11)とは反対側における端部には、バルブ(13)が設けられている。注入は、ポンプやプランジャーシリンジを使用することによってあるいは微小流通回路アセンブリの上流側と下流側との間の圧力差によって、行うことができる。

【0028】注入デバイスは、他の技術を使用して形成することもでき、特に、国際公開特許明細書第01/07159号に記載されているような、微小機械加工技術を使用して形成することもできる。

【0029】図2に示すように、マイクロキャビラリまたはマイクロチャネル(21～26)は、互いに平行に配置されており、かつ、同一平面上に配置されている。

【0030】マイクロキャビラリに対して垂直に、2つの温度制御部材が設けられている。そのため、これら温

度制御部材は、注入チャネル(12)に対して平行である。これら温度制御部材は、温度領域(31, 32)を形成している。これら温度領域は、ペルチェ効果抵抗素子を使用して形成することができる。これら温度領域は、また、マイクロキャビラリの近傍を流通する熱伝導流体(液体または気体)を使用することによって形成することもできる。したがって、マイクロキャビラリに沿って温度領域を位置決めし得る構成を選択することが有利である。例えば、良好な熱伝導特性を有した例えば真鍮や銅やアルミニウムといったような材料から形成されているとともに複数のマイクロキャビラリを挿通させる複数の穴が形成されているような長尺部材を、使用することができる。このような長尺部材は、ペルチェ効果デバイスに対して接着することができる。このような構成であると、良好な熱接触を保証することによって、温度領域を制限することができる。

【0031】次に、本発明によるデバイスの機能について、図2～図8を参照して説明する。本発明によるデバイスは、マイクロキャビラリ内へと、複数の可動反応チャンバと複数のセグメントとからなる一連のものを供給する。反応チャンバは、-20°Cという温度(T_1)において冷凍状態でありかつ霧囲気温度(T_2)において液体状態であるような水性溶液から形成されていることが、仮定される。セグメントは、双方の温度(T_1 , T_2)において液体状態であるオイルを使用して形成される。

【0032】図2に示すように、バルブ(13)が閉塞状態とされ、デバイスアセンブリの全体が、オイル(1)でもって充填されている。ここで、温度領域(31)が、温度(T_1)とされる。

【0033】図3に示すように、水性反応溶液(2)が、注入チャネル(12)内へと導入され、注入チャネル(12)内における水性反応溶液の伝搬速度もって、マイクロキャビラリ(21～26)を充填し始める。溶液(2)が、温度領域(31)の位置に到達した時点で、その特定のマイクロキャビラリ内におけるこの溶液(2)の伝搬は、停止する。それは、その温度領域(31)において溶液(2)が凝固するからである。このようにして、マイクロキャビラリのうちの、長尺部材(10)内に位置している端部と、温度領域(31)と、の間に位置しているすべてのマイクロキャビラリ部分は、すべてのマイクロキャビラリが同一断面積のものである限りにおいては、同一容積の溶液(2)によって充填される。

【0034】その後、バルブ(13)が開放され、注入チャネル(12)のバージが可能とされ、セグメント化ビーズを形成することを意図した液体すなわちオイルによって、注入チャネル(12)を再充填する。この状態が、図4に示されている。これにより、複数の第1反応チャンバ(102)が形成される。

【0035】その後、バルブ(13)が閉塞される。温度領域(31)の温度は、T₁からT₂へと上昇し、これにより、温度領域(31)内における水性溶液の凝固が融解し、マイクロキャピラリ(21～26)内において、液体が流通できるようになる。

【0036】温度領域(32)の温度を、T₂からT₁へと移行させる。オイル(1)が注入され続けることにより、先に形成された各反応チャンバ(102)は、温度領域(32)に向けて移動する。各反応チャンバが温度領域(32)の位置に到達した時点で温度領域(32)の位置で水性溶液が凍結することにより、各反応チャンバは、並列的に移動を停止する。この時点の様子が、図5に示されている。

【0037】その後、バルブ(13)が、再度、開放される。注入チャネル(12)がバージされ、先に使用した水性反応溶液とは異なるものとすることができる水性反応溶液(3)によって、注入チャネル(12)を充填する(図6参照)。これにより、各マイクロキャピラリ内において、先に形成された可動反応チャンバの後方側(上流側、基端側)に、セグメント化ビーズ(101)が形成される。各セグメント化ビーズ(101)は、同じ長さを有している。

【0038】その後、バルブ(13)が閉塞される。温度領域(32)の温度は、T₁からT₂へと上昇し、これにより、注入チャネル(12)内へと水性溶液(3)が注入され続けたときには、マイクロキャピラリ(21～26)内における液体の流通(移動)が可能とされる(図7参照)。

【0039】温度領域(31)の温度を、T₁とする。これにより、水性溶液(3)が、温度領域(31)の位置に到達した時点で、マイクロキャピラリ(21～26)内における注入プロセスにおいて、水性溶液(3)の移動が停止する。その後、バルブ(13)が開放され、注入チャネル(12)がバージされ、図8に示すように、オイル(1)によって、注入チャネル(12)を再充填する。これにより、複数の第2反応チャンバ(103)が形成される。

【0040】その後、セグメント化ビーズと反応チャンバとの形成サイクルを、温度領域(31)の温度をT₂へと上昇させた後に、再開することができる。

【0041】場合によっては、反応チャンバの1つまたは複数の構成要素を、低温に敏感なものあるいは凍結に敏感なものとすることができる。例えば、ある種の生物学的反応においては、凍結した水性溶液中に置かれたときには活性が消滅してしまうような酵素を使用する。そのような場合には、低温に敏感な構成成分を、第2温度領域(32)を通過した後に、反応チャンバに対して添加することができる。これにより、そのような低温敏感成分が凍結温度(T₁)となってしまう状況を防止することができる。低温敏感成分は、その後、反応チャン

バ内へと様々な手法によって導入することができる。例えば、第2温度領域(32)よりも先端側(下流側、前方側)においてマイクロキャピラリ(21～26)に対して連結された複数の側方チャネルを使用することによって、導入することができる。側方チャネルは、特定リザーバ内の温度でもって低温敏感成分をサンプリングする。

【0042】いくつかの時点において、流通が、わずかに同期ズレしたものとなることがあり得る。これは、図7に示されている。図7においては、既に形成された反応チャンバ(102)どうしの間に、シフト(ズレ)が存在している。実際、すべてのマイクロキャピラリにわたって、一様な流通関係／圧力関係を保証することは、困難である。特に、互いに非混和性の液体どうしの間の界面を有した流通においては、流通と圧力との間の相関関係が複雑であることが示されている。実際、2つの表面間のメニスカスに起因する毛細管力を考慮する必要がある。チャネル内における漏れ／乾き現象を制御することは、一般に極めて複雑であって、チャネルどうしの間にわたっての非同期問題を引き起こし得る。しかしながら、本発明における注入モードは、各注入に関して、流通の再同期化をもたらすことができる。図2～図8に図示されている例示としての実施形態においては、温度領域(31, 32)という2つの介在領域が設けられている。しかしながら、反応領域シリーズの前進の制御性を高め得るようまた同期ズレを制限し得るよう、さらなる介在領域を設けることができる。

【0043】マイクロチャネル内における2つの液体の中の一方に対する伝搬制御手段は、流通対象をなすどちらの液体に対しても適用することができる。熱的手段以外の制御手段を使用することによって、液体の伝搬を拘束したりあるいは減速させたりすることができる。粘性を利用した減速方法、磁気効果を利用した方法、電気的漏れ方法、および、チューブ締付方法、について言及することができる。

【0044】粘性を利用した減速方法は、図2～図8に図示したのと同じ基本設計概念(アーキテクチャー)において使用することができる。しかしながら、温度は、2つの相間において、制御手段が能動的である場合には必然的に重要であるような粘度差をもたらす。

【0045】磁気効果に基づく方法を例示するためには、ただ1つのマイクロチャネルの一部分だけが、ここではマイクロキャピラリ(40)の一部分だけが、図9において長さ方向断面図によって示されている。並列的に同期化された注入が得られるよう、すべてのマイクロチャネルに対してこのような磁気効果方法が適用されることは、理解されるであろう。2つの液体(41, 42)のうちの一方、例えば液体(42)は、磁界に対して感受性を有した強磁性粒子を含有している。したがって、そのような液体は、強磁性流体または磁気流体であ

る。他方の液体は、強磁性粒子を含有していない。この場合には、図2～図8に示すデバイスにおける温度領域に代えて、磁石または電磁石（43）を使用することができ、これにより、同じ機能をもたらすことができる。【0046】また、磁界の存在下においては粘度が1000倍に増大し得るようなマグネットレオロジカル流体を、使用することもできる（米国特許明細書第5, 549, 837号を参照されたい）。

【0047】1つまたは2つの流体の伝搬の制御手段は、電気的濡れ効果（electrowetting effect）によって形成することができる。電気的濡れあるいは電気的親水性においては、一方の液体と壁との間の表面エネルギーの差に関する特性が、静電界の印加によって決定される。これに関しては、Gruno BERGE 氏による C.R. Acad. Sci. Paris, Vol. 317, No. II, pages 157-163, 1993における“Electro-capillarity and wetting of insulating films by water”と題する文献や、Junghoon LEE 氏および Chang-jin KIM 氏による Journal of Microelectro-mechanical Systems, Vol. 9, No. 2, pages 171-180, 2000における“Surfacetension driven microactuation based on continuous electrowetting (CEW)”と題する文献、を参照することができる。この特性は、液体の性質（導電率、透磁率、等）に依存する。よって、デバイス内を流通する2つの流体のうちの一方の流体に対して選択的に作用させることができる。よって、図2～図8に示すデバイスにおいて使用されていた温度制御部材を、マイクロキャピラリ内において静電界を形成し得るような一組をなす電極によって、代替することができる。

【0048】電気的濡れ効果に基づく方法を例示するために、ただ1つのマイクロキャピラリ（50）の一部分だけが、図10において長さ方向断面図によって示されている。並列的に同期化された注入が得られるよう、使用されているすべてのマイクロキャピラリに対してこのような実施態様が適用されることは、理解されるであろう。マイクロキャピラリ（50）は、マイクロキャピラリ（50）の上壁と下壁とのそれぞれに配置された2つの電極（51, 52）を備えている。この例においては、下電極（52）上においてマイクロキャピラリの内方を向いて、表面安定化層（53）が成膜されている。この表面安定化層は、他方の電極（51）上にも成膜することができ、電極（51, 52）の双方上に成膜することができる。マイクロキャピラリ（50）内においては、水性溶液からなる複数の可動反応チャンバ（54）と、例えばオイルといったような隔離液体からなる複数の隔離ビーズ（55）と、から構成された一連のものが移動する。可動チャンバ（54）をなす液体の誘電特性と、隔離ビーズ（55）をなす液体の誘電特性とは、互いに相違する。電極（51, 52）間に電位差が印加され、なおかつ、反応チャンバ（54）が電極（51, 52）間に位置しているときには、壁に対してのこの液体の濡れ性が増大することが観測される。よって、マイクロキャピラリの流通特性を変更することができる。特に、1つの可動チャンバ（54）をなす液体が電極（51, 52）間に位置しているときには、流通を停止させることができる。これら電極間の電位差が解除されたときには、両液体の流通が、再開可能となる。

【0049】チューブ締付に基づく方法を例示するために、ただ1つのマイクロキャピラリ（60）の一部分だけが、図11において長さ方向断面図によって示されている。並列的に同期化された注入が得られるよう、使用されているすべてのマイクロキャピラリに対してこのような実施態様が適用されることは、理解されるであろう。マイクロキャピラリ（60）は、少なくとも1つの変形可能部分を有している。そのような変形可能部分は、例えば、ポリマーやシリコーンから形成することができる。この変形可能部分の締付は、符号（61）によって示されているような機械的システムによって、もたらすことができる。

【0050】キャピラリ内におけるメニスカスに起因する毛細管圧力が、キャピラリの断面積に依存することは、周知である。この特性が、メニスカスを不動化するために使用される。例えば、キャピラリ内に急激な断面積変化を形成するだけで十分に不動化を行うことができる。このことは、多くの応用において既に見出されている。これに関しては、Jun ZENG 氏他による Micro Total Analysis Systems, 2000, Kluwer Academic Publishers, pages 579-582における“Designanalysis of capillary burst valves in cernrifugal microfluids”と題する文献を参照することができる。この特性は、本発明において使用することができ、図2～図8に示すデバイスにおいて使用されていた温度制御部材を、マイクロチャネル内において急激な断面積変化を誘起し得るようなキャピラリ締付によって、代替することができる。

【0051】好ましくは、マイクロチャネルすなわちマイクロキャピラリ（60）の内面は、疎水性とされる。複数の可動反応チャンバ（62）は、水性相から形成されており、複数のセグメント化ビーズ（63）は、例えばオイルといったような、水性相とは非混和性の相から形成されている。よって、新たな反応チャンバが締付位置に到達した時点で、流通を停止させることができる。締付を解除することにより、反応領域シリーズの流通を再開させることができる。

【0052】図12は、その機能が図2～図8に示されているような本発明による並列的同期注入デバイス（100）を使用した、生物学的反応器を示している。

【0053】図12には、分析対象をなすN個（N種類）の試料を含有した井戸プレート（71）と、M個（M種類）の様々な反応剤を含有した井戸プレート（72）と、を示されている。分析は、生物学的手順に従つ

た1つの反応剤と1つの試料との混合に対応している。生物学的手順は、チャネル(81)を備えてなる微小流通部材すなわちマイクロシステム(80)内において行われる。微小流通部材(80)は、図13においては、長さ方向断面図でもって図示されている。チャネル(81)の数は、好ましくは、N個とされる。

【0054】図12に示す生物学的反応器は、連続流内においてN×M個の反応を実行することができる。

【0055】各チャネル(81)は、マイクロチューブ(73)を介して、井戸プレート(71)の1つの井戸に対して連結されている。よって、同一チャネル内を、同一試料が、連続的に流通する。このことは、異なる2つの試料間において汚染が発生してしまいかねないというリスクを除去し得るという利点を、もたらす。試料の注入は、例えば蠕動ポンプといったような、ポンプ(74)を使用して行うことができる。

【0056】符号(75)は、M個の反応剤を含有した井戸プレート(72)内の各井戸内へとニードルまたはピペッタ(76)を移動させ得るロボットを、概略的に示している。反応剤の吸引、および、マイクロシステム(80)内に対しての、吸引した反応剤の注入は、プランジャーシリンジ(77)と供給バルブ(78)によって行われる。ロボット(75)は、また、反応剤に対して非混和性の液体でありかつ反応領域シリーズを形成するために必要な液体を貯蔵した容器(図示せず)のところへと、ニードル(76)を移動させることができる。

【0057】符号(10, 13, 31, 32, 21~26)は、図2における各部材と同じ部材を示している。デバイス(100)におけるマイクロキャビラリは、チャネル(81)の数と全く同じ数とされている。符号(31, 32)は、例えば、温度領域を示している。

【0058】図13は、2枚のプレートを重ね合わせて接着することによって得られたマイクロシステム(80)を示している。図13における断面は、ある1つのチャネル(81)の軸に沿って得られた断面である。チャネル(81)は、受領開口(82)と排出開口(83)とを有している。

【0059】複数のマイクロキャビラリ(21~26)は、受領開口(82)を介して、部材(80)に対して連結されている。使用されている手順に応じて、反応生成物は、廃棄物容器へと、あるいは、検出器へと、あるいは、キャビラリ(79)が連結されている排出開口(83)を介して他のマイクロシステムへと、搬送される。

【0060】マイクロシステム(80)は、さらに、チャネル(81)に対して連通している開口(84)を備えている。これら開口(84)は、マイクロチューブ(73)を受領している。部材(90)が、マイクロシステム(80)の下側に取り付けられている。部材(9

0)は、例えば、チャネル(81)内を流通している液体に対して温度サイクルを付与し得るペルチェ効果デバイスとされる。

【0061】本発明による注入デバイスは、N個のキャビラリにわたって並列的にかつ同期的な態様で、複数の可動反応チャンバ(102)と複数のセグメント化ビーズ(101)とを備えてなる反応領域シリーズを生成することができる。この反応領域シリーズは、マイクロシステム(80)のチャネル(81)へと到達する。その後、可動反応チャンバは、マイクロチューブ(73)を経由して開口(84)を通して搬送されてきた試料と混合される。よって、この構成においては、連続流内においてN×M個の異なる反応を実行することができる。

【0062】本発明によるデバイスおよび方法は、様々な生物学的処理や様々な生化学的処理や様々な化学的処理を実行するに際して使用することができ、例えば、増幅反応(例えば、PCR、LCR)や、遺伝子型の分析(例えば、マイクロシークエンシング)や、複雑な多糖類の構造的キャラクタライゼーションや、化学合成手順、等を実行するに際して使用することができる。

【0063】例えば、上記生物学的反応器を使用することにより、特にPCR(ポリメラーゼ連鎖反応)といったようなDNA増幅反応を行うことができる。これに関しては、国際公開特許明細書第01/07159号を参照することができる。この文献は、図12および図13において符号(80)で示したタイプのマイクロシステムと、直線状チャネル内において様々な温度領域を通過する連続流に関するPCR手順の実行方法と、を開示している。得られる反応の数は、例えば、DNA試料に対して96個の井戸とPCR反応材料に対して96個の井戸とを使用した場合には、96×96である。

【0064】本発明は、従来技術と比較して、多くの利点をもたらす。反応領域シリーズは、様々な反応剤を備えることができる。注入は、1μlよりも少ない量とすることができる量でもって複数のキャビラリにわたって並列的に行われる。注入量は、悪くとも0.01μlという精度でもって制御される。注入精度は、キャビラリの寸法精度や反応領域の寸法精度によって、高めることができる。制御は、すべてのキャビラリに対して共通している。デッドスペースが、非常に小さい。実際、一組をなす複数のキャビラリ全体にわたってのデッドスペースは、注入チャネル(12)の容積の程度である。注入される反応領域シリーズは、反応剤の数に関する制限がない(例えば、200個以上)。本発明によるシステムは、使用が簡便である。さらに、フィードバックがないことにより、複雑な技術が不要である。システムの寸法(注入チャネル(12)と温度領域(31, 32)との間の距離)は、可動反応チャンバの容積とセグメント化ビーズの容積との自動校正を可能とする。キャビラリ全体にわたっての流通は、校正された通りのものとなる。

様々な動作モードを使用することができ、用途に応じた最適のモードを選択することができる。注入は、生物学的において使用されているすべてのタイプの井戸フレート内における反応剤の貯蔵に適している。

【図面の簡単な説明】

【図1】 反応領域シリーズを概略的に示す図であって、互いに異なる複数の反応領域は、循環することができる。

【図2】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図3】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図4】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図5】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図6】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図7】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図8】 本発明による並列的同期注入デバイスを示す断面図であって、使用時の様子を示している。

【図9】 本発明による並列的同期注入デバイスにおけるマイクロチャネルに関しての、磁気制御手段の使用を詳細に示す図である。

【図10】 本発明による並列的同期注入デバイスにおけるマイクロチャネルに関しての、電気的湿り制御手段の使用を詳細に示す図である。

【図11】 本発明による並列的同期注入デバイスにおけるマイクロチャネルに関しての、チューブ締付制御手段の使用を詳細に示す図である。

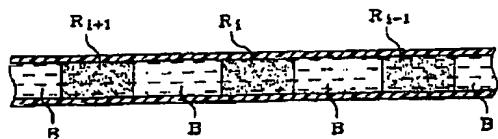
【図12】 本発明による並列的同期注入デバイスを使用した生物学的反応器を概略的に示す図である。

【図13】 図12に示す生物学的反応器内において使用される微小流通部材を示す軸方向断面図である。

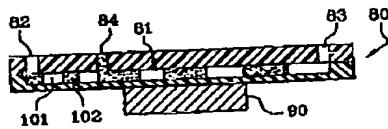
【符号の説明】

- 10 長尺部材(部材、注入手段)
- 11 チャネル導入部
- 12 注入チャネル
- 13 バルブ(排出手段)
- 21 マイクロチャネル
- 22 マイクロチャネル
- 23 マイクロチャネル
- 24 マイクロチャネル
- 25 マイクロチャネル
- 26 マイクロチャネル
- 31 温度領域(領域)
- 32 温度領域(領域)
- 80 マイクロシステム
- 81 チャネル
- 82 受領開口(第1受領開口)
- 84 受領開口(第2受領開口)
- 100 微小流通デバイス
- 101 セグメント化ビーズ(セグメント部材)
- 102 可動反応チャンバ
- 103 可動反応チャンバ

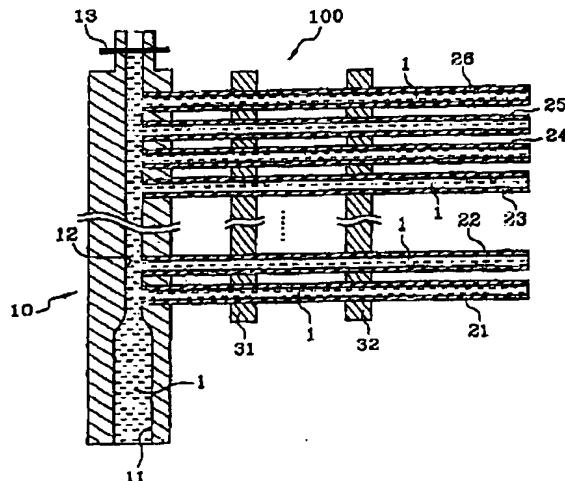
【図1】



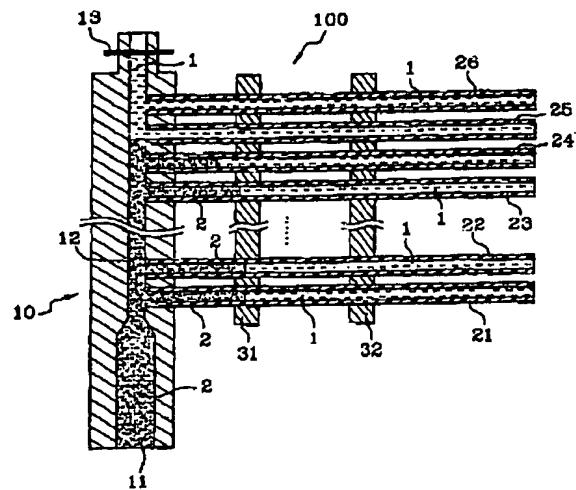
【図13】



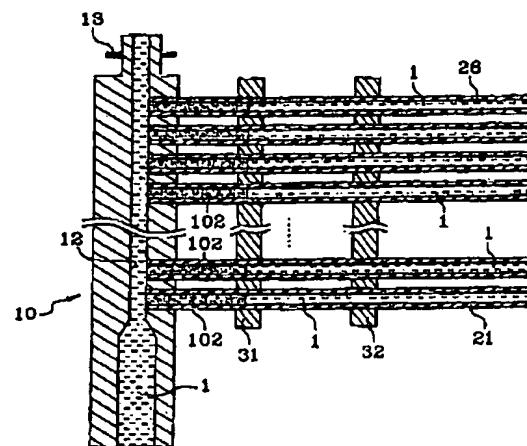
【図2】



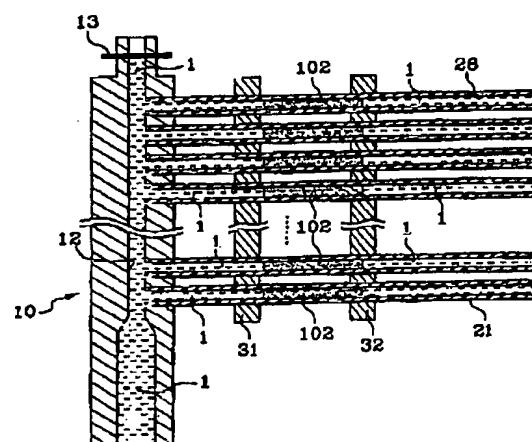
【図3】



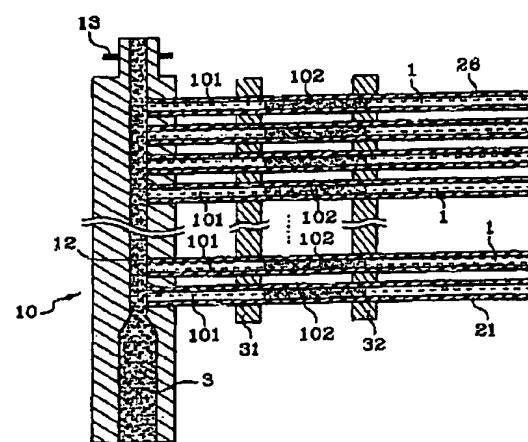
【図4】



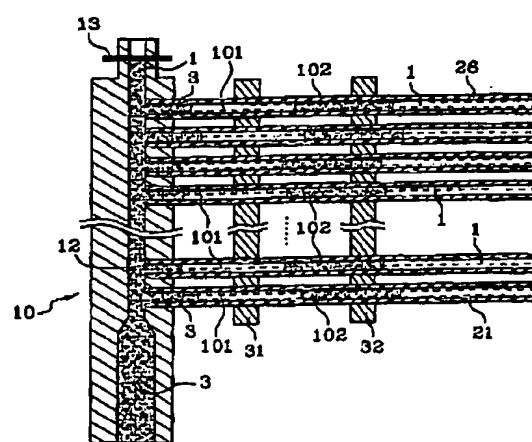
【図5】



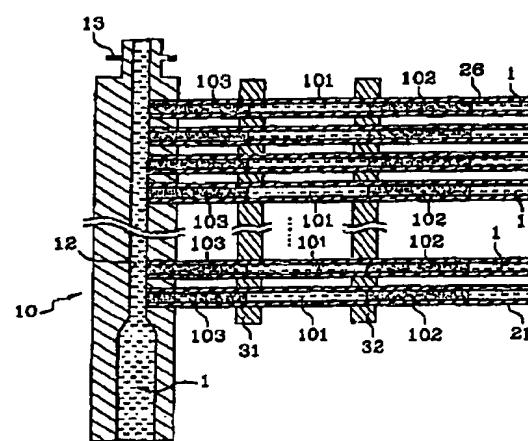
【図6】



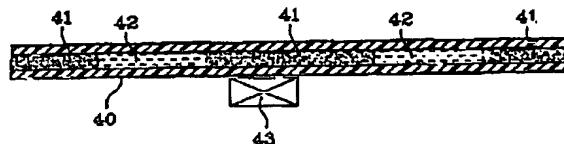
【図7】



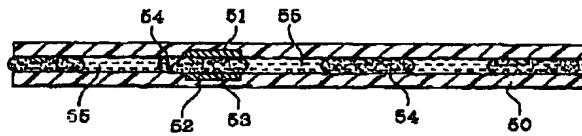
【図8】



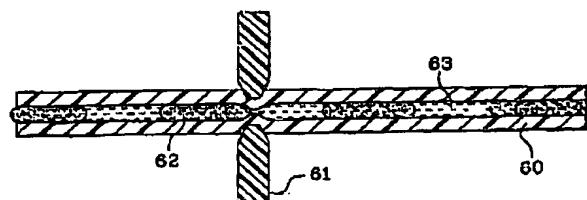
【図9】



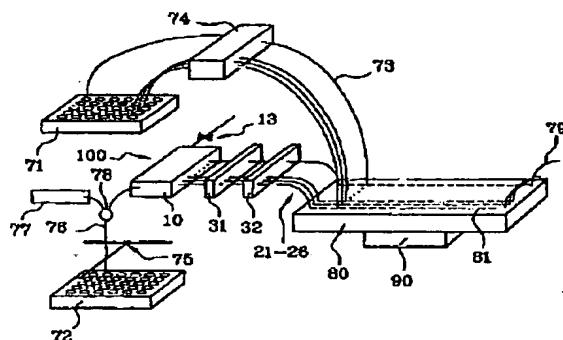
【図10】



【図11】



【図12】



フロントページの続き

(72)発明者 ニコラス・サルート
フランス・38170・セイジネ・パリセ・リ
ュ・ジョルジュ・マクデール・140

(72)発明者 アントワーヌ・グリュス
フランス・38170・セイジネ・パリセ・リ
ュ・デュ・プログレ・8

F ターム(参考) 4G075 AA39 AA62 AA63 AA65 CA02
CA03 CA42 EB21 FA01 FB12
FC06 FC09

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.